



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Anaplasma phagocytophilum: vectores y comunidades de reservorios en Europa

Anaplasma phagocytophilum: vectors and reservoirs communities in Europe

Autor/es

Selma Celaya Pérez

Director/es

Agustín Estrada Peña

Natalia Fernández Ruiz

Facultad de Veterinaria

2021

Índice

Índice.....	2
Resumen.....	3
Abstract.....	3
Introducción.....	4
Material y métodos.....	5
Justificación y objetivos.....	5
Resultados.....	6
Discusión.....	15
Conclusiones.....	16
Conclusions.....	17
Valoración personal.....	18
Bibliografía.....	18
Anexo 1.....	23
Material suplementario.....	23

Resumen

Anaplasma phagocytophilum es un patógeno intracelular transmitido por la picadura de garrapatas del género *Ixodes*, siendo *Ixodes ricinus* el principal vector en Europa. Se trata una bacteria zoonótica capaz de provocar enfermedad en el ser humano, la anaplasmosis granulocítica humana (AGH), por lo que resulta interesante conocer su situación epidemiológica y la prevalencia actual en Europa, así como evaluar sus principales reservorios silvestres (aves, pequeños mamíferos, ungulados) y su distribución espacial. Es por ello que en este trabajo se ha realizado un meta-análisis de los datos recogidos en 284 artículos publicados en revistas indexadas y cuyos estudios de campo se realizaron entre los años 1996 y 2017. Se han incluido datos de prevalencia obtenidos a partir de garrapatas recogidas de la vegetación, alimentándose sobre animales silvestres o usando tejidos/órganos de animales silvestres. También se han tenido en cuenta datos de prevalencia serológica en humana, aunque este valor ha resultado ser de escaso interés por el bajo número de publicaciones. A la luz de los resultados obtenidos no es esperable un gran aumento en los próximos años de la presencia del patógeno en Europa, ya que la tendencia de su prevalencia muestra unas oscilaciones cíclicas de compleja descripción, pero sí queda patente que *A. phagocytophilum* está presente en todo el territorio estudiado, que comprende todos los países europeos y el Reino Unido. Además de los datos puramente epidemiológicos, es preciso resaltar la necesidad de realizar un mayor número de investigaciones con una correcta homogeneidad en la presentación y comunicación de los datos, ya que hay una gran disparidad en los métodos de estudio que suponen un inconveniente a la hora de comparar y analizar los resultados obtenidos.

Abstract

Anaplasma phagocytophilum is an intracellular pathogen transmitted by the bite of ticks of the genus *Ixodes*, being *Ixodes ricinus* the main vector in Europe. It is a zoonotic bacterium causing disease in humans, known as the human granulocytic anaplasmosis (AGH), so it is interesting to know its epidemiological situation and current prevalence in Europe, as well as to evaluate its main wild reservoirs (birds, small mammals, ungulates) and its spatial distribution. This study is a meta-analysis of the data collected in 284 articles published in indexed journals and whose field studies were carried out between the years 1996 and 2017. Prevalence data were obtained for ticks either collected from vegetation or feeding on wild animals or using samples of wild animal tissues/organs. Data on serological prevalence in humans have also been considered, although this value has turned out to be of little interest due to the low number of publications. Considering the results obtained, a large increase in the presence of the pathogen in Europe is not expected in the coming years, since the trend of its prevalence shows cyclical oscillations of complex description, but it is clear that *A. phagocytophilum* is present throughout the territory studied, which includes all European countries and the United Kingdom. In addition to the purely epidemiological data, it is necessary to highlight the need to carry out a greater number of investigations with better homogeneity in the communication of the data, since there is a great disparity in the study methods that represent an inconvenience when comparing and analyze the results obtained.

Introducción

El cambio climático, la globalización, el aumento de la población humana y de animales domésticos, la fragmentación del hábitat y el mayor contacto con la fauna salvaje y la naturaleza, parece estar detrás del incremento de la incidencia de procesos transmitidos por vectores que antes pasaban desapercibidos (Boulanger *et al.*, 2019, Caminade *et al.*, 2019). Los patógenos transmitidos por mosquitos, como *Plasmodium*, virus Zika, Dengue o West Nile son más conocidos (Semenza *et al.*, 2018) pese a que las garrapatas son los artrópodos que transmiten mayor variedad de patógenos a los humanos. Recientemente, se ha comenzado a reconocer la importancia de las garrapatas en la Salud Pública y animal, ya que se ha demostrado que son vectores de patógenos causantes de cuadros clínicos graves. Estos patógenos pueden afectar tanto a animales como a humanos, y producen grandes pérdidas económicas. Dentro de las patologías causadas por ellos se encuentran la borreliosis de Lyme, las fiebres recurrentes, la anaplasmosis, la ehrlichiosis, la babesiosis, o víricas como la encefalitis transmitida por garrapatas o el recientemente proceso producido el virus de Alonsán (ALSV) descubierto recientemente, ambos flavivirus (Kuivanen *et al.*, 2019). Uno de los patógenos que está recibiendo mayor atención en Europa es *Anaplasma phagocytophilum*, debido a que los casos clínicos son escasos, pero su presencia se extiende por gran parte de Europa.

Anaplasma phagocytophilum es una bacteria intracelular obligada perteneciente a la familia Anaplasmataceae (Orden Rickettsiales) causante de provocar la enfermedad conocida como anaplasmosis granulocítica humana (AGH), tanto en animales como en humanos, que provoca una inmunodepresión y debilidad generalizada. Su principal vector en el hemisferio norte son garrapatas duras de la familia Ixodidae, como *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus* en Estados Unidos, o *Ixodes ricinus* en Europa (Chastagner *et al.*, 2016), garrapatas que también son responsables de la transmisión de otras bacterias o virus.

La AGH se describió por primera vez como una entidad clínica humana en EE.UU. en el año 1994, mientras que en Europa (Eslovenia) se describió en 1997 (Oteo *et al.*, 2005), por lo que es considerada una zoonosis y una enfermedad emergente. En la actualidad, los casos humanos en Europa siguen siendo escasos y se considera que la fauna salvaje constituye el grupo de vertebrados más importante para mantener este patógeno en focos estables (García Pérez *et al.*, 2016). En Estados Unidos se informa anualmente de un número mucho mayor de casos clínicos en humanos que en Europa, por circunstancias que aún son desconocidas. Uno de los principales problemas es su diagnóstico clínico ya que los síntomas son inespecíficos (dolor de cabeza, cansancio, mareos, anemia, dolor articular). Si no existe una sospecha o confirmación de la picadura de una garrapata no se suele incluir en el protocolo de diagnóstico diferencial con otros procesos (Oteo y Brouqui, 2005).

Anaplasma phagocytophilum necesita de una garrapata (vector) y un animal vertebrado (reservorio) para completar su ciclo. Los hospedadores más importantes en los que es capaz de multiplicarse, aquellos que actúan como reservorios y permiten el mantenimiento del ciclo, son los ungulados silvestres como por ejemplo el corzo (*Capreolus capreolus*) o el ciervo (*Cervus elaphus*). La prevalencia observada en ellos suele ser más alta que las encontradas en carnívoros, roedores, aves o humanos. Debido a que se trata de animales más grandes, que pueden albergar más garrapatas, por lo que la prevalencia podría ser mayor, por una simple cuestión de tamaño del vertebrado y por lo tanto mayores probabilidades de transmisión. Sin embargo, los recientes estudios de biología molecular de *A. phagocytophilum* demuestran que hay cepas asociadas a los ungulados, mientras que otras lo hacen a roedores, insectívoros o aves (Jaarsma *et al.*, 2019). Las aves se consideran diseminadoras del patógeno, ya que transportan al menos una de las garrapatas vectoras, *Ixodes ricinus*, a través de largas distancias. Sin embargo, la prevalencia del patógeno en ellas no es significativamente alta (Pedersen *et al.*, 2020, Heylen *et al.*, 2017). Se piensa que las aves contribuyen a la

permanencia de los focos naturales, pero su importancia en el ciclo vital del patógeno es conocida solamente a una escala local (Jaarsma *et al.*, 2019). Sin embargo, los datos de Jaarsma *et al.* (2019) indican que pueden existir otras garrapatas que, aunque no afecten a los humanos, sí pueden contribuir al mantenimiento de ciclos silváticos del patógeno, manteniendo su circulación entre diversos vertebrados que también albergan a *I. ricinus*. Esta hipótesis aún precisa la confirmación de la transmisión en el laboratorio.

La principal garrapata vectora en Europa es *Ixodes ricinus*, un artrópodo que tiene 3 estadios: larva, ninfa y adulto; para mudar de uno a otro, o para realizar la puesta de huevos, debe alimentarse de la sangre de un animal vertebrado (Mihalca y Sándor, 2013). Si este hospedador es reservorio de *Anaplasma*, la garrapata ingerirá la bacteria, la cual permanecerá en la población de garrapatas tras las mudas a los diferentes estadios (transmisión transestadial) y se transmitirá a los huevos (transmisión transovárica), por tanto las siguientes generaciones de garrapatas serán capaces de infectar a los animales de los que se alimenten, provocando la persistencia de la bacteria en focos naturales (Jaarsma *et al.*, 2019). Los hospedadores domésticos comparten zonas de pasto con ungulados silvestres, roedores y aves (Silaghi *et al.*, 2018; Hamsikova *et al.*, 2019), haciendo de estas zonas haya un nicho ecológico perfecto para el desarrollo y supervivencia de *I. ricinus* y produciéndose en estas áreas un aumento de la densidad de garrapatas (Lebert *et al.*, 2020). Debido a esto existen así mayores posibilidades de contacto humano-garrapata infectada; los grupos de mayor riesgo son pastores, veterinarios, agentes forestales y cazadores (Malgortaza *et al.*, 2016). En estos grupos se ha registrado un aumento de picaduras de garrapatas, sobre todo en los países centroeuropeos. En los casos en los cuales se ha podido estudiar el artrópodo responsable de la transmisión, ha sido identificado normalmente como *I. ricinus* (Lernout *et al.* 2019). Ciertos estudios realizados recientemente en muestras de sangre de pacientes humanos revelan que la prevalencia de *Anaplasma* no es alarmante (Jahfari *et al.* 2016), pese a que sí se ha encontrado un ligero aumento a lo largo de los años (Matei *et al.*, 2017).

Justificación y objetivos

Ante el aumento de los patógenos transmitidos por vectores, concretamente *A. phagocytophilum* se hace necesario contemplar la distribución conocida de este a una escala continental en Europa, como paso inicial para elaborar medidas de control y de adaptación. Este trabajo se ha centrado en la obtención sistemática de datos publicados sobre la prevalencia de *A. phagocytophilum* en Europa, para conocer (i) cuál es la prevalencia media tanto en garrapatas como en reservorios (ii) si otras garrapatas pueden estar implicadas en la transmisión de la bacteria, (iii) la tendencia de la prevalencia del patógeno en el tiempo y (iv) la diferente prevalencia que puede existir entre garrapatas en la vegetación, alimentándose o en los tejidos de los reservorios. Este último punto es de especial interés en este enfoque porque los diferentes valores de prevalencia obtenidos de diferentes fuentes pueden llevar a conclusiones erróneas cuando se analizan a una escala continental.

Material y Métodos

Este estudio se inició con una recopilación bibliográfica basada en los métodos PRISMA (Rethlefsen *et al.*, 2021). La búsqueda se realizó tanto en PubMed, como en Scopus, incluyendo los términos “*Anaplasma phagocytophilum*” y “Europe” (o cualquiera de los países integrados en el continente). No se hicieron restricciones adicionales, pues suponían acotar artificialmente el nombre de los vertebrados o de las garrapatas, lo que sesgaría la información obtenida. Los artículos a incluir en la revisión se seleccionaron leyendo el título y el resumen, eliminando aquellos que se referían a la clínica, o a revisiones de índole absolutamente médica. Se seleccionaron exclusivamente aquellos que se referían a la epidemiología de la bacteria, mencionando datos de prevalencia, vertebrados en los que se había encontrado el vector, o prevalencia del patógenos en diferentes órganos del reservorio vertebrado. Estos datos se utilizaron para

desarrollar dos acciones fundamentales: obtener un mapa de distribución de *A. phagocytophilum* y analizar una serie básica de datos estadísticos sobre la prevalencia del patógeno bien en garrapatas, bien en tejidos de los vertebrados. Se ha prestado una especial atención al tamaño de la muestra y a la prevalencia informada, así como a la prevalencia y al estadio de la garrapata colectada. Como norma, solamente se han usado datos obtenidos mediante serología (por ejemplo, en humana) o mediante diferentes métodos de amplificación de ADN.

De forma general, los datos sobre hospedadores silvestres se publican a nivel de la especie de vertebrado, lo que genera un “ruido” cuando se pretende analizar estadísticamente, ya que existe una extraordinaria dispersión de los datos según la especie y la zona de captura. Por ello, todos los datos se han colapsado a nivel de género de vertebrado y especie de garrapata para poder analizarlos de forma coherente. En todas las tablas en las que aparece la prevalencia se han utilizado los valores “promedio”, y así se calcula para cada año, distinto tejido del hospedador, diferente estadio de la garrapata y diferente fuente (tejido de un animal, garrapata alimentándose o garrapata en la vegetación).

La tendencia de la prevalencia se ha analizado mediante una simple regresión a partir de los datos medios calculados para cada año. En las gráficas se han incluido los resultados de la tendencia obtenida por métodos polinómicos, para demostrar que a pesar de utilizar métodos estadísticos más “potentes” que una simple regresión lineal, esa tendencia está lejos de observar un patrón. Se decidió no usar un análisis de series temporales de tipo econométrico, debido a que los datos suelen estar agrupados por años, lo cual proporcionaba muy poca información y un alto ruido de fondo. Cualquier otro procedimiento hubiera implicado la reducción del número de datos y muy probablemente una discordancia en la tendencia observada, ya que este valor tiende a ser diferente según los métodos de análisis. Como dato importante a destacar en esta revisión, todos los datos relativos a animales domésticos se han eliminado, debido a que estos animales son comunes en los estudios, y su alta representación tiende a falsear los datos “reales” que se observan en condiciones naturales (Estrada-Peña *et al.*, 2015).

Resultados

Este meta-análisis acerca de la presencia, prevalencia y distribución de *A. phagocytophilum* en Europa se ha basado en un total de 284 artículos únicos (Material suplementario, Anexo I), cuyos estudios de campo fueron realizados entre los años 1996 y 2017 (y publicados hasta el año 2020). Como en cualquier meta-análisis los datos son muy variados, con grandes lagunas entre los territorios muestreados, amplia variedad de muestras (garrapatas, vertebrados, diferentes órganos) y de metodología. Como se ha indicado, se han eliminado todos los datos procedentes de animales domésticos, estos al ser más accesibles se muestrean más, lo que puede distorsionar gravemente la simetría de los resultados. La Tabla 1 indica la prevalencia por países europeos, cuya media, obtenida según las diferentes muestras, se sitúa alrededor del 20%. Existe una alta variabilidad en estos datos agrupados por países, que no parece corresponder a la mayor o menor abundancia de vectores o de reservorios, sino con el esfuerzo realizado para buscar el patógeno. A pesar de que parecen existir lagunas (por ejemplo, Rumanía) la prevalencia en los países centroeuropeos es claramente mayor que en la región Mediterránea, destacando de cualquier forma el valor observado para Eslovenia. A pesar de que la garrapata vectora es muy abundante en la región Báltica, los países de esa zona ostentan valores bajos de prevalencia.

Países	Prevalencia media
Albania	1,53 %

Alemania	31,72 %
Austria	34,72 %
Bélgica	24,48 %
Bielorusia	2,65 %
Bulgaria	16,60 %
Croacia	15,67 %
Dinamarca	27,26 %
Eslovaquia	13,89 %
Eslovenia	59,55 %
España	22,28 %
Estonia	7,41 %
Finlandia	18,10 %
Francia	38,56 %
Hungría	11,87 %
Italia	17,76 %
Letonia	6,50 %
Lituania	6,03 %
Luxemburgo	2,15 %
Moldavia	6,38 %
Noruega	25,35 %
Países Bajos	18,90 %
Polonia	20,58 %
Portugal	8,41 %
Reino Unido	15,37 %
República Checa	12,96 %
Rumanía	8,22 %
Serbia	24,54 %
Suecia	27,89 %
Suiza	18,63 %
Media de prevalencia	22,34 %

Tabla 1: Prevalencia media, en porcentaje, de *Anaplasma phagocytophilum*, agrupada por países europeos,

y basada en los datos de 284 artículos publicados en revistas indexadas, recogiendo los datos procedentes tanto de garrapatas como de vertebrados y humanos.

La Figura 1 indica el número total de muestras que se han examinado por año. Esta figura comprende tanto datos procedentes de animales silvestres, como muestras humanas, como datos procedentes de garrapatas (tanto alimentándose como recogidas de la vegetación, ver más abajo para una explicación de estos conceptos). La anomalía observada en el año 2012 está producida por un amplio estudio llevado a cabo en Francia, en el que se analizaron mediante serología muestras humanas de más de 100,000 pacientes. Este estudio distorsiona completamente el tamaño de muestra esperado en comparación a otros años. La Figura 2 repite estos datos tras la eliminación de esos datos extra para ese año, lo que proporciona una mejor visualización de los resultados. No hay una tendencia clara en cuanto al tamaño muestral, pero es obvio que *A. phagocytophilum* tenía un escaso interés en Europa antes del año 1999.

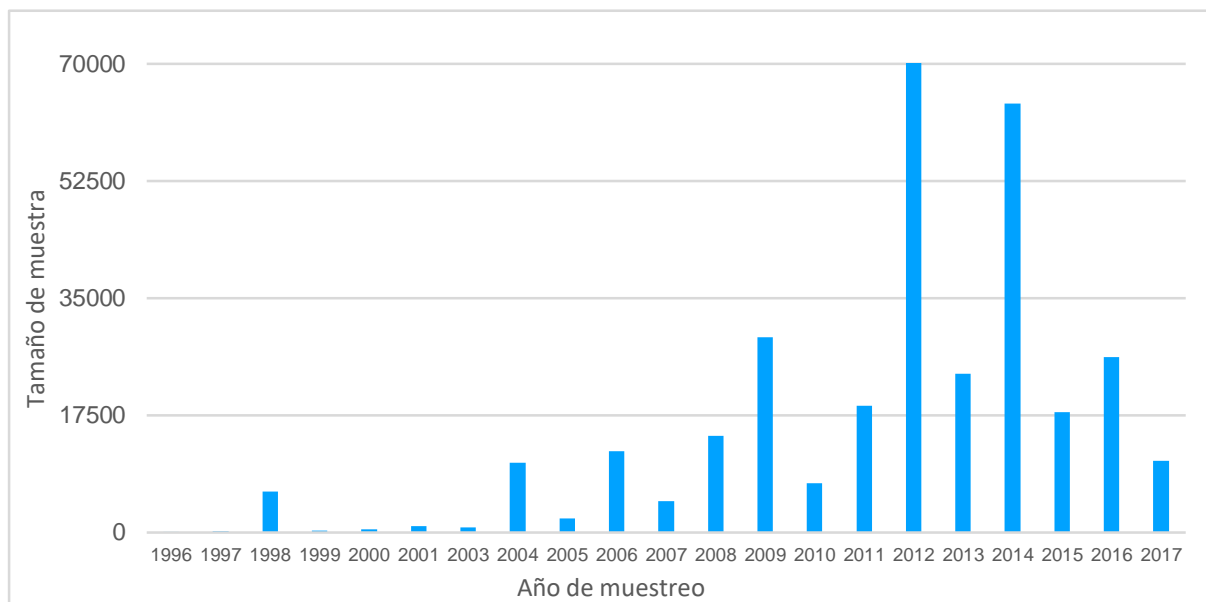


Figura 1: Tamaño de muestra agrupado por años en los estudios de *Anaplasma phagocytophilum* en Europa, incluyendo todos los datos accesibles tras la búsqueda bibliográfica.

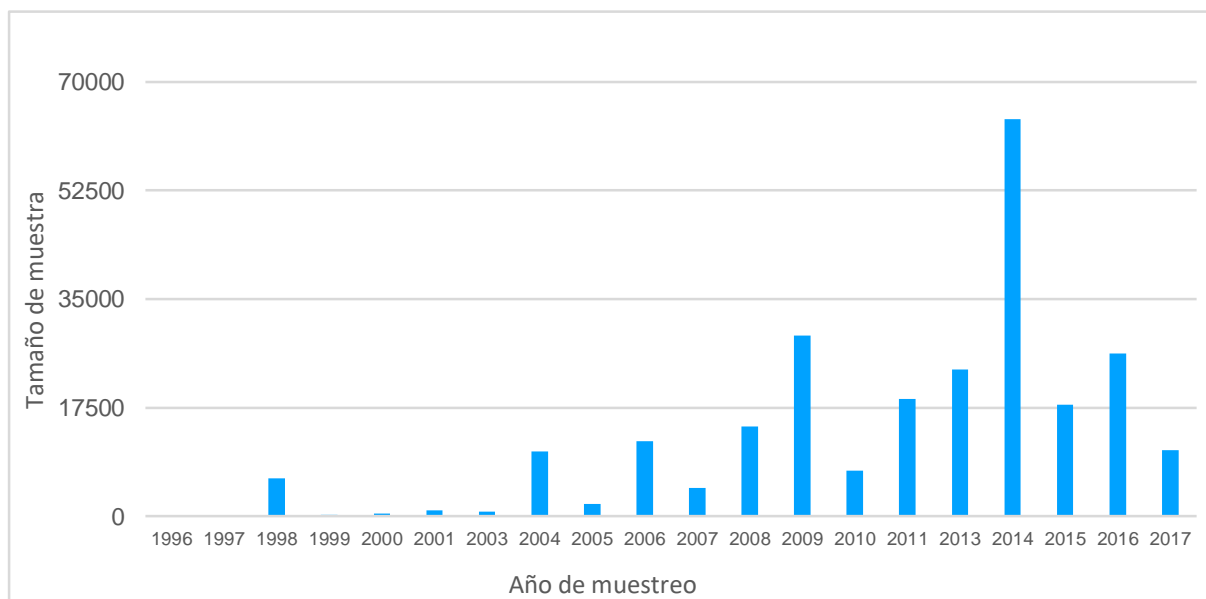


Figura 2: Tamaño de muestra agrupado por años en los estudios de *Anaplasma phagocytophilum* en Europa, incluyendo todos los datos accesibles tras la búsqueda bibliográfica, y eliminando los datos de un estudio en humana realizado en el año 2012

La Figura 3 indica la relación que existe entre el tamaño de las muestras que se han recogido y su prevalencia, se aprecia que al aumentar el tamaño de muestra que se analiza disminuye la prevalencia de *A. phagocytophilum*, lo cual concuerda con lo esperado y refleja la realidad de la situación actual.

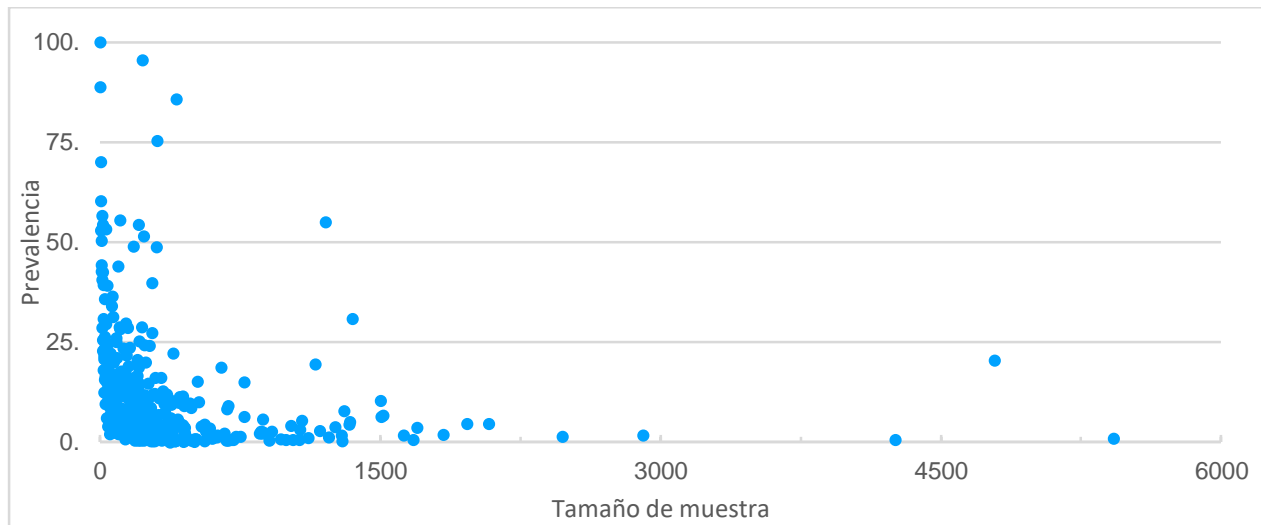


Figura 3: Relación de la prevalencia, en porcentaje, de *Anaplasma phagocytophilum* en referencia al tamaño de muestra.

Una de las fuentes principales para conocer la distribución de *A. phagocytophilum* ha sido el estudio de muestras de diferentes órganos de los vertebrados que posiblemente son reservorios y que incluso pueden albergar diferentes haplotipos del patógeno. Existe una tendencia a pensar que diferentes órganos del hospedador vertebrado pueden proporcionar resultados variables para la presencia de *A. phagocytophilum*, que se han visto confirmados en este meta-análisis. Utilizando exclusivamente los datos publicados a partir de la amplificación del ADN del patógeno, se comprueba que el riñón siempre proporciona la menor prevalencia, mientras que el bazo o la piel, arrojan los valores más altos de prevalencia. La Tabla 3 indica los datos de prevalencia media encontrados en diferentes órganos de posibles reservorios vertebrados.

La Tabla 4 disocia además los diferentes órganos de muestreo de *A. phagocytophilum* en diferentes vertebrados. Es necesario destacar que en la especie humana solamente se han realizado estudios serológicos (sangre y suero), pero nunca un aislamiento del patógeno de ningún órgano. Dentro de las muestras pertenecientes animales silvestres destaca la presencia de ratones de campo y algunos ungulados silvestres. Sin embargo, las aves tienen una representación puramente testimonial (género *Corvus* exclusivamente). En otras palabras, las aves parecen tener una escasa relevancia como vehículos en sí mismos del patógeno. A partir de estos resultados, la principal suposición es que las aves se limitan a transportar al vector que puede estar infectado. Aunque las aves participan de forma activa en su diseminación del vector, parece que las condiciones corporales de las Passeriformes no permiten la multiplicación de *A. phagocytophilum*.

Prevalencia media	
Garrapatas alimentándose	16,16 %
Tejido del hospedador	35,14 %
Garrapatas en vegetación	8,85 %
No indicado	2,85 %
Media de prevalencia	22,34 %

Tabla 2: Prevalencia media, en porcentaje, de *Anaplasma phagocytophilum*, agrupada por el tipo de muestra.

Como resumen, la prevalencia varía según la muestra utilizada (incluyendo un 2,86% de datos en los que no se indicó la fuente de material utilizada). Atendiendo al uso de amplificación de ADN de tejidos del hospedador, la prevalencia alcanza un valor medio general del 35%. Esta prevalencia baja hasta el 8,85% en garrapatas obtenidas de la vegetación (lo que proporciona una idea del riesgo real, ver Tabla 2) y de prácticamente el doble (16,16%) en garrapatas recogidas mientras se alimentaban sobre los hospedadores silvestres. Este dato tiene una interpretación obvia: las garrapatas analizadas durante su alimentación pueden transportar ADN del patógeno que han obtenido mediante la alimentación, proporcionando una visión sesgada de la prevalencia real en el vector. Es necesario añadir aquí que, desde el año 1996, solamente existen datos de prevalencia en la garrapata *Ixodes ricinus*. Se desconoce si la causa se debe a que ha sido la única garrapata estudiada, o porque los resultados negativos de otras especies de garrapatas nunca han sido publicados. El sesgo persiste incluso al nivel más básico de estudio.

Órgano	Prevalencia media
Bazo	43,51 %
Bazo/hígado	36,33 %
Corazón	10,04 %
Hígado	38,17 %
Oreja	21,77 %
Piel	49,11 %
Pulmón	10,28 %
Riñón	5,56 %
Sangre	38,71 %
Suero	23,80 %
Media de Prevalencia	33,97 %

Tabla 3: Prevalencia media de *Anaplasma phagocytophilum* encontrada en los diferentes tejidos muestreados.

La dispersión encontrada en los datos no ha permitido establecer una correcta asociación estadística, pese al haber realizado un análisis ANOVA sobre los datos individuales. Los resultados fueron pobres y con escasa significación resaltando únicamente asociaciones significativas lógicas entre las prevalencias halladas en bazo, hígado o ambos tejidos combinados o la piel frente a los restante órganos. Estas asociaciones significativas se deben: (i) la presencia del patógeno en piel como resultado de la picadura de garrapata, y (ii) la presencia del patógeno en vísceras como el bazo y el hígado, en las que se puede acumular. Algunos de los factores que han llevado a no conseguir una estadística correcta son el tamaño de muestra pequeño y sesgado por la presión de estudio, así como la variedad de técnicas y metodologías. Un ejemplo claro de lo anterior, se encuentra en los resultados procedentes de vísceras según los diferentes géneros de vertebrados muestreados, se muestran en la Tabla 4. Resulta obvio por los resultados de la tabla 4, que los órganos o fluidos preferidos por los investigadores son el bazo y la sangre completa o el suero. Es posible que estos datos desagregados indiquen por qué las muestras de piel han arrojado el mayor valor de posibilidad: el número de muestras es muy bajo (12 de 687) pero el mismo razonamiento podría aplicarse al uso de bazo+hígado o del hígado solamente. Es interesante comprobar que los resultados de bazo+hígado no se relacionan en absoluto con los datos obtenidos del bazo solamente, por lo que suponemos que el uso de diferentes métodos de aislamiento o diagnóstico se encuentra detrás de la disparidad de las cifras.

Género de Vertebrado	bazo	bazo/hígado	corazón	hígado	oreja	piel	pulmón	sangre	sueros	Total general
<i>Alces</i>	4							1	1	6
<i>Apodemus</i>	15				3	2	1	3		24
<i>Bison</i>			1					3		4
<i>Bos</i>								18	15	33
<i>Capra</i>	1							3	1	5
<i>Capreolus</i>	35	2		2		4		29	3	75
<i>Cervus</i>	7			1				23	1	32
<i>Clethrionomys</i>								2		2
<i>Corvus</i>			1							1
<i>Dama</i>	4							4	3	11
<i>Equus</i>								28	23	51
<i>Erinaceus</i>					1			4		5
<i>Felis</i>	1							7	7	15
<i>Homo</i>								17	63	80
<i>Lepus</i>									1	1
<i>Microtus</i>	2						1	6		9

<i>Mus</i>	1								3	4
<i>Myodes</i>	11				1	2	1	1		16
<i>Nyctereutes</i>							1			1
<i>Rattus</i>	1									1
<i>Rupicapra</i>	2							1	1	4
<i>Sciurus</i>	1									1
<i>Sorex</i>	2							1		3
<i>Sus</i>	7	1				1		6	1	17
<i>Turdus</i>	1							1		2
<i>Vulpes</i>	28	1					1			30
Total general	148	4	2	3	5	12	5	256	251	687

Tabla 4: Número de muestras de tejido analizadas en función del género y tipo de tejido de cada animal.

Otra deducción obtenida de este meta análisis, es que parece no existir una tendencia lineal en la prevalencia por *A. phagocytophilum* en las diferentes muestras desde el año 1996 en Europa: el simple ajuste lineal de estos datos revela una R^2 de apenas 0.1457 utilizando un ajuste polinomial de seis términos (lo que es excesivo en términos estadísticos, y que hemos usado solamente para demostrar la ausencia de una tendencia en el tiempo sencilla de explicar). Esto queda plasmado en la Figura 4 que demuestra la completa falta de correlación entre el tiempo y la prevalencia. Esta gráfica y sus resultados están obviamente desviados por varios factores, como pueden ser (i) la abundancia relativa de los diferentes tipos de muestras (por ejemplo, garrapatas alimentadas y sin alimentar, lo que ya se mencionado anteriormente que falsea los resultados), (ii) el interés relativo de los diferentes grupos de trabajo hacia el patógeno, o (iii) la inclusión de muestras de origen humano, que suelen proporcionar un alto número de especímenes y contribuir a cambiar la prevalencia. Sí parece resultar claro que existe una periodicidad, alternando periodos de mayor y menor prevalencia con intervalos de 3-4 años, cuyas razones son difíciles de explicar en términos simples.

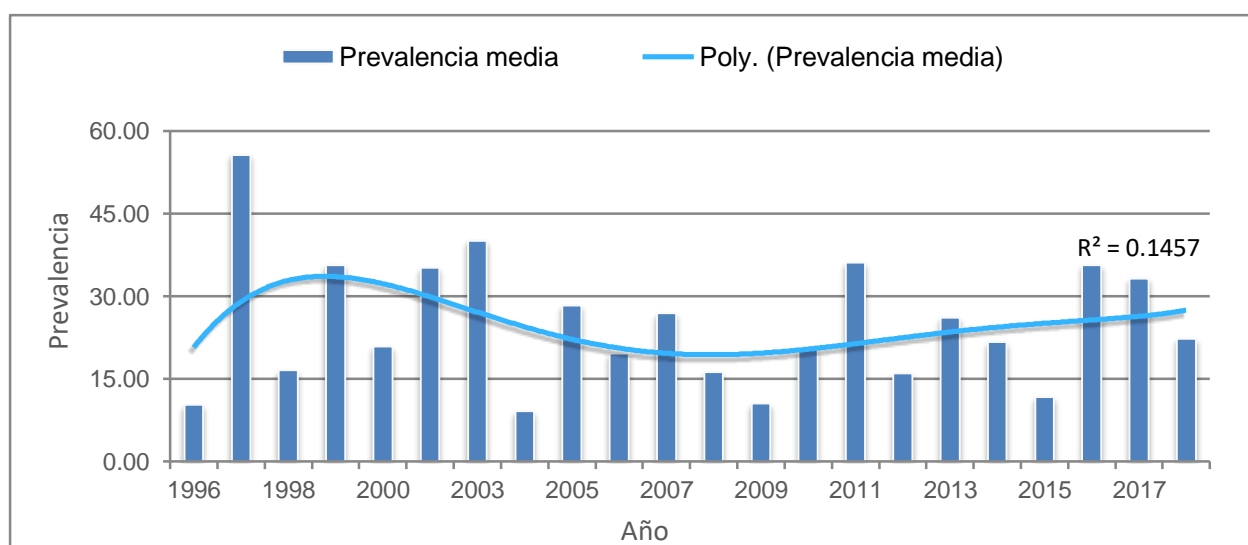


Figura 4: Correlación lineal de la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* y el tiempo de muestreo del mismo

Estadio	Tamaño de muestra	Prevalencia media
Adulto (sin indicar sexo)	7773	14,32%
Hembra	19569	14,37%
Macho	13048	10,72%
Larva	4211	10,38%
Ninfa	55478	6,84%
No indicado	369077	35,15%
Total general	469827	24,34%

Tabla 5: Tamaño de muestra y prevalencia media de *Anaplasma phagocytophilum* en *Ixodes ricinus* en función de su estadio. Se ha incluido el número total de individuos independientemente de si se obtuvieron alimentándose de un hospedador o de la vegetación. Se incluyen datos en los cuales no se indica el estadio ni sexo de la garrapata.

Sin embargo, el uso de las coordenadas proporcionadas en los informes sobre la presencia de *A. phagocytophilum* en Europa proporciona una visión coherente de la distribución continental, que se incluye en la Figura 5 en la siguiente página. La visión, de nuevo, debe considerarse sesgada como consecuencia de un “sobre-muestreo” en algunas regiones del continente, mientras que apenas existen datos para otras zonas. Sin embargo, es interesante destacar que la zona de distribución conocida del patógeno coincide en términos laxos con la distribución de la principal garrapata vectora a los humanos.

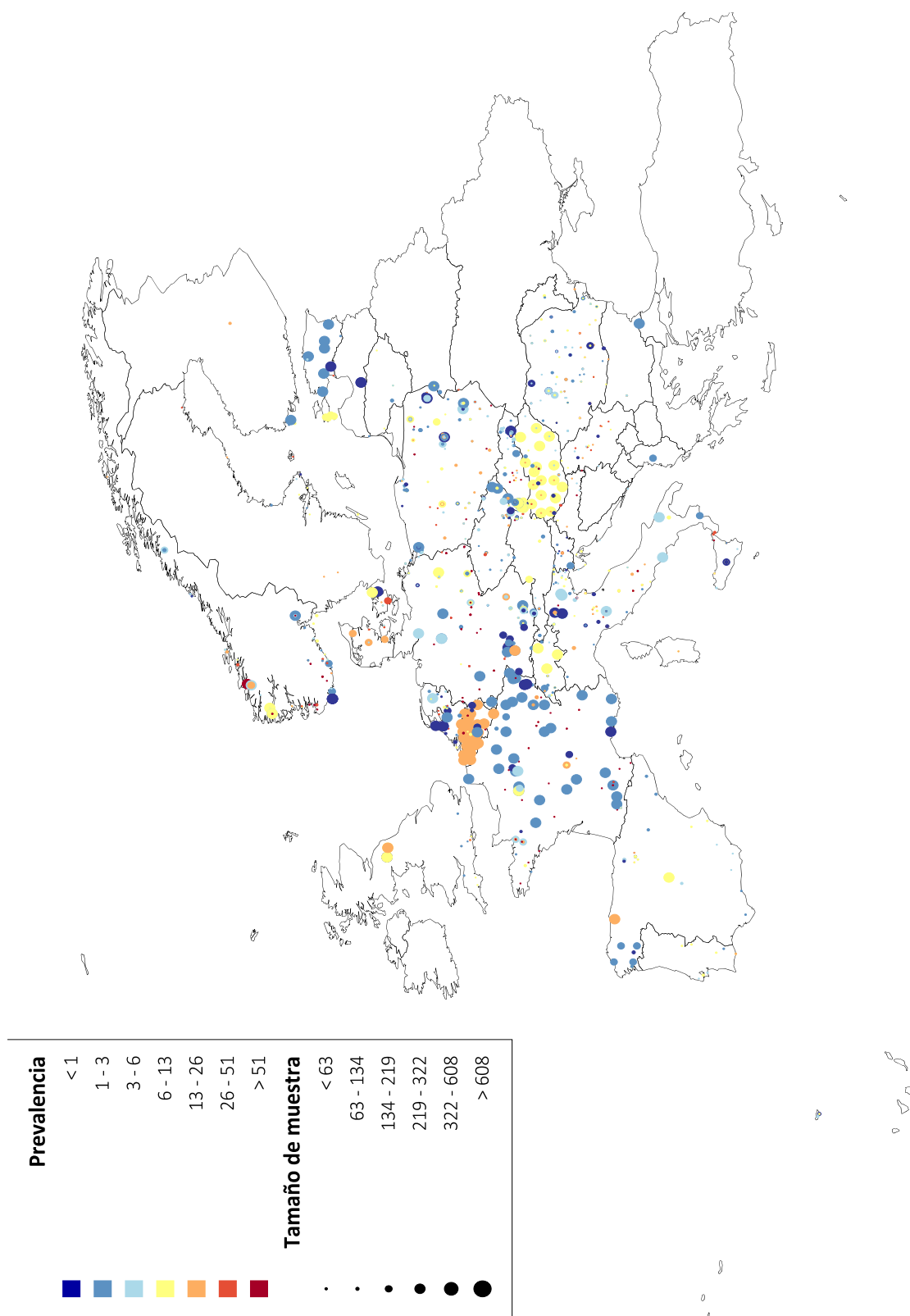


Figura 5: Representación gráfica en Europa de la prevalencia y el tamaño de muestra en los distintos países en función de las coordenadas obtenidas a lo largo del estudio bibliográfico. Los diferentes colores indican la prevalencia encontrada, en porcentaje, de *Anaplasma phagocytophilum* como se indica en la figura, siendo los de tonalidades azules los de menor porcentaje y los de tonos rojizos los de mayor; el diferente tamaño de los puntos es proporcional al tamaño de muestra recogido.

Discusión

Este estudio se ha basado en un total de 284 artículos publicados hasta el año 2020 para llevar a cabo una actualización sobre la distribución, prevalencia, garrapatas vectoras y posibles reservorios de *A. phagocytophilum* en Europa. Se trata de una bacteria de potencial interés zoonótico, transmitida exclusivamente por la picadura de garrapatas, y cuyo diagnóstico en humana es todavía complejo, debido a la ausencia de una serie de síntomas específicos y de fácil interpretación (Oteo y Brouqui, 2005; Matei *et al.*, 2017, 2018). Estudios recientes han puesto de manifiesto la presencia del patógeno en amplias zonas de Europa, pero nunca se ha acometido un meta-análisis de su prevalencia en todo el continente. Tampoco se han comparado anteriormente los diferentes valores de prevalencia que se pueden encontrar bien en vectores, bien en los hospedadores vertebrados. Este meta-análisis solamente ha incluido estudios realizados a partir de métodos moleculares o serológicos (los últimos, normalmente en el caso de la especie humana).

A la luz de los resultados obtenidos, se deduce que cada método de diagnóstico (garrapatas, reservorios, etc.) arroja diferentes valores de prevalencia, e indica que las garrapatas capturadas mientras se están alimentando no son una buena fuente de datos para tener una panorámica adecuada de la tasa de infección. Ello es debido a que los métodos de detección de ADN no permiten separar aquellas garrapatas que realmente estaban infectadas antes de alimentarse, de las que lo han sido mientras se alimentaban, al ingerir sangre de los hospedadores. Debido a que las garrapatas se procesan en lotes, todos los ejemplares capturados sobre el mismo vertebrado, que puede estar infectado, serán positivos, aumentando artificialmente los valores de prevalencia. La medida ideal sería obtener esos valores a partir de garrapatas capturadas en la vegetación, aunque el método sea más laborioso (Estrada-Peña *et al.*, 2013).

Mención aparte merecen los datos obtenidos a partir de vertebrados. En ese apartado se han obtenido resultados muy variables, utilizando el género del vertebrado como nexo de agrupamiento, ya que el uso de las especies producía estimaciones aún más variables. Los diversos estudios analizados han utilizado un número variable de órganos en los que detectar *A. phagocytophilum*, siendo los más frecuentes el hígado y el bazo. Sin embargo, no todos los métodos arrojan conclusiones semejantes, lo que puede ser debido a la sensibilidad del vertebrado para albergar la bacteria, al método de detección o a la obvia variabilidad geográfica existente en las muestras (Asman *et al.*, 2017).

En otras palabras, la presencia de *A. phagocytophilum* en un vertebrado se puede poner de manifiesto rápidamente con una muestra de tejido de piel, a ser posible en las proximidades en las que las garrapatas se están alimentando, aunque los tejidos de la oreja parecen no ser buenos indicadores. Una simple biopsia de la piel permitiría la obtención de resultados fiables sin necesidad de recurrir al sacrificio del animal. En este estudio no se ha procedido a detallar los resultados de los diferentes órganos según la especie de vertebrado, porque los datos se hayan muy dispersos (Da Rold *et al.*, 2018). Únicamente se ha podido establecer de forma genérica la importancia de cada tejido para proporcionar una cantidad suficiente de ADN que sea detectable y amplificable para la correcta identificación. No es posible obtener datos más precisos sin incurrir en problemas estadísticos de representatividad de la muestra.

La única garrapata en la que se ha detectado *A. phagocytophilum* en Europa, en el periodo de estudio ha sido *Ixodes ricinus*. Algunas revisiones (Jahfari *et al.*, 2017; Matei *et al.*, 2017, 2018; Jaarsma *et al.*, 2019) indican que otras garrapatas podrían estar implicadas en la circulación de la bacteria en focos naturales implicando a una variedad amplia de vertebrado. Jaarsma *et al.* (2019) demostraron la segregación de haplotipos de *A. phagocytophilum* según las garrapatas y los vertebrados implicados. Ello parece indicar que se debería quizás hablar de una serie de poblaciones de *A. phagocytophilum* ligadas a diferentes condiciones ecológicas, en las que participan diversas garrapatas y vertebrados. Estas constituirían la verdadera esencia de la circulación

de la bacteria. Dicho de otra forma, sin una indicación clara de la *población* (o cepa) del patógeno, los resultados publicados son lo suficientemente laxos, como para que no se pueden establecer límites claros acerca de la importancia de cada vertebrado en la distribución de *A. phagocytophilum*. Por el contrario, los resultados obtenidos acerca de la prevalencia de la bacteria en garrapatas tienen gran interés. Al tratarse de un organismo con transmisión transovarica (Aureli *et al.*, 2015) es de esperar que su presencia en las larvas sea relativamente alta, pero no es de esperar que fuera mayor que en las ninfas, las cuales ya provienen de una alimentación previa sobre un vertebrado; es decir, la hipótesis de trabajo era que las ninfas deberían mostrar una mayor prevalencia que las larvas. Los resultados son confusos, una de las razones puede ser debido el alto número de muestras publicadas sin indicar el estadio de la garrapata implicando lo que distorsiona el análisis. Además, esto complica extraordinariamente la obtención de conclusiones que se pueden obtener a partir de estos datos, ya que, por ejemplo, los adultos (sin indicar estadio) arrojan una prevalencia similar a la de las hembras, mientras que los machos de *I. ricinus* tienen una prevalencia de hasta el 3% menos. No obstante, como se ha mencionado se deben tomar estos datos con precaución debido a la crónica ausencia de datos adecuados acerca del haplotipo de *A. phagocytophilum* dominante en la zona de estudio.

Los evidentes cambios que se observan en los valores de prevalencia anual pueden ser debidos a muchas causas como, por ejemplo, el muestreo de un bajo número de muestras en algunas regiones, la sobrecolección de garrapatas alimentadas (que aumenta los valores de prevalencia), el uso de diferentes métodos de amplificación de ADN que pueden proporcionar resultados diferentes, o las propias causas de la variabilidad inter-anual del patógeno en sus vectores y/o reservorios. Lo que se ultima tras el estudio es que la prevalencia de *A. phagocytophilum* en Europa se mantiene relativamente estable en un periodo de tiempo de 15 años. Esto todavía requiere mejores series de datos para emplear métodos de detección de la tendencia más precisos que para una serie temporal tan corta como de la que se dispone (por ejemplo, Caminade *et al.*, 2019).

En resumen, *A. phagocytophilum* está fuertemente asentado en Europa, pero el nivel de comunicación de datos dista mucho de ser homogéneo como para obtener un paradigma centrado cerca de su circulación. Mientras no se proceda a la uniformidad en la comunicación de los resultados, por ejemplo, indicando el estadio de la garrapata, analizando el haplotipo o muestreando otras garrapatas menos comunes (y quizás con menor importancia zoonótica) la visión de la distribución de *A. phagocytophilum* en Europa seguirá siendo incompleta.

Conclusiones

- *Anaplasma phagocytophilum* es un patógeno con potencial zoonótico, sobre el cual se han comenzado a realizar estudios de su prevalencia y distribución en Europa hace unos 15 años, y aún hacen falta muchas investigaciones para sentar unas bases “comunes” que permitan comparar datos de una forma estadísticamente sólida.
- En los países del este y centro de Europa existen valores más altos de prevalencia del patógeno que en los países mediterráneos. Esto no quiere decir que no esté presente, sino que no se han llevado a cabo tantos estudios, como en los que sí se ha realizado en zonas con prevalencias más altas. También puede ser debido a la escasez de su vector principal en la región Mediterránea.
- El método de extracción del ADN y su origen ya sea tejido de un animal reservorio, una garrapata alimentándose o removida de la vegetación, arrojan resultados variables en el cálculo final de la prevalencia. Las garrapatas recogidas durante la alimentación en los animales no dan una prevalencia realista. Esta prevalencia se obtiene mediante un “pool” de todas las que se encuentran sobre el

mismo animal, determinando simplemente presencia o ausencia el ADN del patógeno, por lo que no se cuantifica realmente la infección por cada garrapata.

- El tejido que se analiza influye a la hora de determinar la prevalencia, variando desde porcentajes en torno al 40% que se encuentran en piel, bazo e hígado, hasta porcentajes con valores solo del 10% en corazón y pulmón.
- No se puede concluir que el sexo o estadio de la garrapata se correlacione directamente con la prevalencia de la infección en el artrópodo, puesto que los datos publicados no son lo suficientemente precisos como para obtener una inferencia adecuada.
- Los mamíferos vertebrados y las aves mantienen activos los focos de la enfermedad ya sea como reservorio en el que *A. phagocytophilum* se multiplica, siendo los ungulados silvestres los principales, o como diseminadores de *I. ricinus*. Este papel lo cumplen principalmente las aves y en menor medida los roedores.
- Con los resultados de este meta-análisis no es de esperar un gran aumento en los próximos años de la prevalencia del patógeno en Europa, pero sí queda patente que *A. phagocytophilum* está presente en todo el territorio estudiado. Siendo necesario destacar la necesidad de realizar un mayor número de investigaciones con una mayor homogeneidad en la comunicación de los datos.

Conclusions

- *Anaplasma phagocytophilum* is a pathogen with zoonotic potential, on which studies of its prevalence and distribution in Europe have begun some 15 years ago, and much research is still needed to establish “common” bases that allow comparing data from a statistically sound form.
- In eastern and central European countries there are higher prevalence values of the pathogen than in Mediterranean countries. This does not mean that it is not present, but rather that there have not been as many studies as in those that do register higher prevalence. It may also be due to the scarcity of its main vector in the Mediterranean region.
- The DNA extraction method and its origin, whether tissue from a reservoir animal, a feeding tick or removed from the vegetation, yield variable results in the final calculation of prevalence. Ticks feeding on animals do not give a realistic prevalence, since it is obtained by making a “pool” of all those obtained from the same animal and the presence or absence of the pathogen's DNA can simply be determined, so the presence or absence of the pathogen is not really quantified.
- The tissue that is analyzed influences when determining the prevalence, varying from percentages around 40% found in skin, spleen, and liver to percentages up to values of 10% in heart and lung.
- It cannot be concluded that the sex or stage of the tick is directly correlated with the prevalence of infection in the arthropod, as the published data are not precise enough to obtain an adequate inference.
- Vertebrate mammals and birds maintain active disease foci either as a reservoir in which *A. phagocytophilum* multiplies, with wild ungulates being the main ones, or as disseminators of *I. ricinus*. This role is played mainly by birds and to a lesser extent rodents.
- With the results of this meta-analysis, a great increase in the prevalence of the pathogen in Europe is not to be expected in the coming years, but it is clear that *A. phagocytophilum* is present

throughout the territory studied. It is necessary to highlight the need to carry out a greater number of investigations with greater homogeneity in the communication of the data.

Valoración personal

Este trabajo ha supuesto una primera toma de contacto con el mundo de la investigación del que no tenía una idea clara de su funcionamiento y que me parecía interesante y necesario en mi formación. Mi idea inicial era realizar un trabajo que me permitiese estudiar la influencia e importancia de la fauna salvaje en el universo humano que tendemos erróneamente a separar, olvidando que somos los humanos los que estamos a merced del mundo natural; con los resultados obtenidos se puede afirmar que las enfermedades transmitidas por artrópodos, en este caso concreto la anaplasmosis, circulan y son un potencial riesgo para la salud tanto humana como animal, a las cuales hay que destinar un mayor esfuerzo en investigación.

He aprendido a realizar una correcta búsqueda bibliográfica, a trabajar con los datos obtenidos y a extraer la información necesaria de los mismos. También he comprobado el tiempo que hay que invertir, los errores que se pueden cometer, como solventarlos, y que, aunque no siempre los resultados son los esperados siempre son útiles. Espero que este trabajo sea útil y dé una visión actual de la distribución en Europa de *Anaplasma phagocytophilum* a todos aquellos que lo necesiten o les interese.

Bibliografía

- Akl, T., Bourgoin, G., Souq, M.L., Appolinaire, J., Poirel, M.T., Gibert, P., Abi Rizk, G., Garel, M., Zenne, L. (2019) "Detection of tick-borne pathogens in questing *Ixodes ricinus* in the French Pyrenees and first identification of *Rickettsia monacensis* in France". *Parasite* (2019) 26, 20. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019019>
- Andersson, M.O., Marga, G., Banu, T., Dobler, G., Chitimia-Dobler, L. (2018) "Tick-borne pathogens in tick species infesting humans in Sibiu County, central Romania". *Parasitology Research* (2018) 117 pp. 1591–1597. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5848-0>
- Asman, M., Nowak-Chmura, M., Solarz, K., Szilman, E., Semla, M., Zyśk, B. (2017) "*Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Toxoplasma gondii* in *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodida) ticks collected from Slowinski National Park (Northern Poland)". *Journal of Vector Ecology* (2017) 42, No 1 pp. 200-202. <https://doi.org/10.1111/jvec.12258>
- Asman, M., Witecka, J., Korbecki, J., Solarz, K. (2021) "The potential risk of exposure to *Borrelia garinii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in the Wolinski National Park (northwestern Poland)". *Scientific Reports* (2021) 11:4860. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84263-0>
- Asman, M., Witecka, J., Solarz, K., Zwonik, A., Szilman, P. (2019) "Occurrence of *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks collected from selected areas of Opolskie Province in south-west Poland". *Agricultural and Environmental Medicine* (2019) 26, No 4 pp. 544–547. <https://doi.org/10.26444/aaem/110214>
- Aureli, S., Galuppi, R., Ostanello, F., Foley, J.E., Bonoli, C., Rejmanek, D., Rocchi, G., Orlandi, E., Tampieri, M.P. (2015) "Abundance of questing ticks and molecular evidence for pathogens in ticks in three parks of Emilia-Romagna region of Northern Italy". *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (2015) 22, No 3. pp. 459–466. <https://doi.org/10.5604/12321966.1167714>
- Baráková, I., Derdáková, M., Selyemová, D., Chvostáč, M., Špitalská, E., Rosso, F., Collini, M., Rosà, R., Tagliapietra, V., Girardi, M., Ramponi, C., Haufler, H.C., Rizzo, A. (2018) "Tick-borne pathogens and their reservoir hosts in northern Italy". *Ticks and Tick-borne Diseases* 9 (2018) pp.164-170. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.08.012>

- Ben, I., Lozynskyi, I. (2019) "Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* and Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and Tick-Borne Encephalitis Virus in Western Ukraine". *Vector-Borne and zoonotic Diseases* 19 (2019) n° 11. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2450>
- Caminade, C., McIntyre, K.M., Jones, A.E. (2019) "Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases". *Annals of the New York Academy of Sciences* (2019) 1436, pp. 157–173. <https://doi.org/10.1111/nyas.13950>
- Capligina, V., Seleznova, M., Akopjana, S., Freimane, L., Lazovska, M., Krumins, R., Kivrane, A., Namina, A., Aleinikova, D., Kimsis, J., Kazarina, A., Igumnova, V., Bormane, A., Ranka, R. (2020) "Large-scale countrywide screening for tick-borne pathogens in field-collected ticks in Latvia during 2017–2019". *Parasites Vectors* (2020) 13:351. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04219-7>
- Cezanne, R., Mrowietz, N., Eigner, B., Duscher, G.G., Glawischnig, W., Fuehrer, H.P. (2017) "Molecular analysis of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia divergens* in red deer (*Cervus elaphus*) in Western Austria". *Molecular and Cellular Probes* 31 (2017) pp. 55-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2016.07.003>
- Chastagner, A., Moinet, M., Perez, G., Roya, E., McCoy, K.D., Plantard, O., Agoulon, A., Bastian, S., Butet, A., Rantier, Y., Verheyden, H., Cèbe, N., Leblond, A., Vourc'h, G. (2016) "Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in small rodents in France". *Ticks and Tick-borne Diseases* 7 (2016) pp. 988-991. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.05.005>
- Chvosták, M., Špitalská, E., Václav, R., Vaculová, T., Minichová, L., Derdáková, M. (2018) "Seasonal Patterns in the Prevalence and Diversity of Tick-Borne *Borrelia burgdorferi* *Sensu Lato*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp. in an Urban Temperate Forest in South Western Slovakia". *Int. J. Environ. Res. Public Health* (2018) 15, 994. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050994>
- Da Rold, G., Ravagnan, S., Soppelsa, F., Porcellato, E., Soppelsa, M., Obber, F., Vittorio Citterio, C., Carlin, S., Danesi, P., Montarsi, F., Capelli, G. (2018) "Ticks are more suitable than red foxes for monitoring zoonotic tick-borne pathogens in northeastern Italy". *Parasites & Vectors* (2018) 11:137. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2726-7>
- Di Domenico, M., Pascucci, I., Curini, V., Cocco, A., Dall'Acqua, F., Pompili, C., Cammà, C. (2016) "Detection of *Anaplasma phagocytophilum* genotypes that are potentially virulent for human in wild ruminants and *Ixodes ricinus* in Central Italy". *Tick-borne Diseases* 7 (2016) pp. 782-787. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.03.012>
- Dumitrache, M.O., Matei, I.A., Ionică, A.M., Kalmár, Z., D'Amico, G., Sikó-Barabási, S., Traian Ionescu, D., Gherman, C.M., Mihalca, A.D. (2015) "Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* genospecies in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Romania". *Parasites & Vectors* (2015) 8:514. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1130-9>
- Ebani, V.V., Bertelloni, F., Mani, P. (2017) "Serological evidence of exposure to zoonotic tick-borne bacteria in pheasants (*Phasianus colchicus*)". *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (2017) 24, No 1, pp. 82–85. <https://doi.org/10.5604/12321966.1234004>
- Ebani, V.V., Rocchigiani, G., Bertelloni, F., Nardoni, S., Leoni, A., Nicoloso, S., Mancianti, F. (2016) "Molecular survey on the presence of zoonotic arthropod-borne pathogens in wild red deer (*Cervus elaphus*)". *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 47 (2016) pp.77-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2016.06.003>
- Ebani, V.V., Rocchigiani, G., Nardoni, S., Bertelloni, F., Vasta, V., Amerigo Papini, R., Verin, R., Poli, A., Mancianti, F. (2017) "Molecular detection of tick-borne pathogens in wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from Central Italy". *Acta Tropica* (2017) 142, pp. 197-200. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.05.014>

- Estrada-Peña, A., de La Fuente, J., Ostfeld, R. S., & Cabezas-Cruz, A. (2015). "Interactions between tick and transmitted pathogens evolved to minimise competition through nested and coherent networks". *Scientific reports*, 5(1), pp.1-13. <https://doi.org/10.1038/srep10361>
- Estrada-Peña, A., Gray, J. S., Kahl, O., Lane, R. S., & Nijhoff, A. M. (2013). "Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens—methodological principles and caveats". *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3, 29. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00029>
- García-Pérez, A.L., Oporto, B., Espí, A., Del Cerro, A., Barral, M., Povedano, I., Barandika, J.F., Hurtado, A. (2016) "*Anaplasmataceae* in wild ungulates and carnivores in northern Spain". *Ticks and Tick-borne Diseases* 7 (2016) pp. 264-269. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.10.019>
- Garcia-Vozmediano, A., Krawczyk, A.I., Sprong, H., Rossi, L., Ramassa, E., Tomassone, L. (2020) "Ticks climb the mountains: Ixodid tick infestation and infection by tick-borne pathogens in the Western Alps". *Ticks and Tick-borne Diseases* 11 (2020) 101489. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101489>
- Grassi, L., Franzo, G., Martini, M., Mondin, A., Cassini, R., Drigo, M., Pasotto, D., Vidorin, E., Menandro, M.L. (2021) "Ecotyping of *Anaplasma phagocytophilum* from Wild Ungulates and Ticks Shows Circulation of Zoonotic Strains in Northeastern Italy". *Animals* (2021) 11, 310. <https://doi.org/10.3390/ani11020310>
- Hamšíková, Z., Silaghi, C., Takumi, K., Rudolf, I., Gunár, K., Sprong, H., Kazimírová, M. (2019) "Presence of Roe Deer Affects the Occurrence of *Anaplasma phagocytophilum* Ecotypes in Questing *Ixodes ricinus* in Different Habitat Types of Central Europe". *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2019) 16: 4725. <https://doi.org/10.3390/ijerph16234725>
- Hauck, D., Springer, A., Pachnicke, S., Schunack, B., Fingerle, V., Strube, C. (2019) "*Ixodes inopinatus* in northern Germany: occurrence and potential vector role for *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., and *Anaplasma phagocytophilum* in comparison with *Ixodes ricinus*". *Parasitology Research* 118 pp. 3205–3216. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06506-4>
- Heylen, D., Fonville, M., Docters van Leeuwen, A., Stroo, A., Duisterwinkel, M., Van Wieren, S., Diuk-Wasser, M., De Bruin, A., Sprong, H. (2017) "Pathogen communities of songbird-derived ticks in Europe's low countries". *Parasites & Vectors* (2017) 10:497. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2423-y>
- Hofmeester, T.R., Krawczyk, A.I., Docters van Leeuwen, A., Fonville, M., Montizaan, M.G.E., Van den Berge, K., Gouwy, J., Ruyts, S.C., Verheyen, K., Sprong, H. (2018) "Role of mustelids in the life-cycle of ixodid ticks and transmission cycles of four tick-borne pathogens". *Parasites & Vectors* (2018) 11:600. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3126-8>
- Honig, V., Carolan, H.E., Vavruskova, Z., Massire, C., Mosel, M.R., Crowder, C.D., Rounds, M.A., Ecker, D.J., Ruzek, D., Grubhoffer, L., Luft, B.J., Eshoo, M.W. (2017) "Broad-range survey of vector-borne pathogens and tick host identification of *Ixodes ricinus* from Southern Czech Republic". *FEMS Microbiology Ecology* (2017) 93, 129. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix129>
- Hornok, S., Sugár, L., Fernández de Mera, I.G., De la Fuente, J., Horváth, G., Kovács, T., Micsutka, A., Gönczi, E., Flaisz, B., Takács, N., Farkas, R., Meli, M.L., Hofmann-Lehmann, R. (2018) "Tick- and fly-borne bacteria in ungulates: the prevalence of *Anaplasma phagocytophilum*, *haemoplasmas* and *rickettsiae* in water buffalo and deer species in Central Europe, Hungary". *BMC Veterinary Research* (2018) 14:98. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1403-6>
- Hrazdilova, K., Lesiczka, P.M., Bardon, J., Vyroubalova, S., Simek, B., Zurek, L., Modrý, M. (2021) "Wild boar as a potential reservoir of zoonotic tick-borne pathogens". *Ticks and Tick-borne Diseases* 12 (2021) 101558. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101558>

- Jaarsma, R. I., Sprong, H., Takumi, K., Kazimirova, M., Silaghi, C., Mysterud, A., Rudolf, I., Beck, R., Földvári, G., Tomassone, L., Groenevelt, M., Everts, R. R., Rijks, J. M., Ecke, F., Hörnfeldt, B., Modrý, D., Majerová, K., Votýpka, J., & Estrada-Peña, A. (2019). *Anaplasma phagocytophilum* evolves in geographical and biotic niches of vertebrates and ticks. *Parasites & vectors*, 12(1), 328. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3583-8>
- Jaarsma, R. I., Sprong, H., Takumi, K., Kazimirova, M., Silaghi, C., Mysterud, A., Rudolf, I., Beck, R., Földvári, G., Tomassone, L., Groenevelt, M., Everts, R. R., Rijks, J. M., Ecke, F., Hörnfeldt, B., Modrý, D., Majerová, K., Votýpka, J., & Estrada-Peña, A. (2019). “*Anaplasma phagocytophilum* evolves in geographical and biotic niches of vertebrates and ticks”. *Parasites & vectors*, 12(1), 328. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3583-8>
- Jahfari, S., Ruyts, S.C., Frazer-Mendelewska, E., Jaarsma, R., Verheyen, K., Sprong, H. (2017) “Melting pot of tick-borne zoonoses: the European hedgehog contributes to the maintenance of various tick-borne diseases in natural cycles urban and suburban areas”. *Parasites & Vectors* (2017) 10:134. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2065-0>
- Kazimírová, M., Hamšíková, Z., Špitalská, E., Minichová, L., Mahříková, L., Caban, R., Sprong, H., Fonville, M., Schnittger, L., Kocianová, E. (2018) “Diverse tick-borne microorganisms identified in free-living ungulates in Slovakia”. *Parasites & Vectors* (2018) 11:495. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3068-1>
- Kjelland, v., Paulsen, K.M., Røllum, R., Jenkins, A., Stuen, S., Soleng, A., Edgar, K.S., Lindstedt, H.H., Vaino, K., Gibory, M., Andreassen, A.K. (2018) “Tick-borne encephalitis virus, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia miyamotoi*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Candidatus Neorhlichia mikurensis* in *Ixodes ricinus* ticks collected from recreational islands in southern Norway”. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9 (2018) pp. 1098-1102. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.04.005>
- Kowalec, M., Szewczyk, T., Welc-Falęciak, R., Siński, E., Karbowski, G., Bajer, A. (2019) “Rickettsiales Occurrence and Co-occurrence in *Ixodes ricinus* Ticks in Natural and Urban Areas”. *Microbial Ecology* (2019) 77 pp. 890–904. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1269-y>
- Król, N., Obiegala, A., Kretschmar, F.M., Hamel, D., Pfeffer, M. (2019) “Tick-borne pathogens in the European polecat, *Mustela putorius* and in attached *Ixodes hexagonus* ticks from Germany”. *Ticks and Tick-borne Diseases* 10 (2019) pp. 594-597. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.02.004>
- Kuivanen, S., Levanov, L., Kareinen, L., Sironen, T., Jääskeläinen, A.J., Plyusnin, I., Zakham, F., Emmerich, P., Schmidt-Chanasit, J., Hepojoki, J., Smura, T., Vapalahti, Olli. “Detection of novel tick-borne pathogen, Alongshan virus, in *Ixodes ricinus* ticks, south-eastern Finland, 2019”. *Euro Surveill* (2019), 24(27). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.27.1900394>
- Lebert, I., Agoulon, A., Bastian, S., Butet, A., Cargnelutti, B., Cèbe, N., Chastagner, A., Léger, E., Lourtet, B., Maseglier, S., McCoy, K.D., Merlet, J., Noël, V., Perez, G., Picot, D., Pion A., Poux, V., Rames, J.L., Rantier, Y., Verheyden, h., Vourc'h, G., Plantard, O. (2020) “Distribution of ticks, tick-borne pathogens and the associated local environmental factors including small mammals and livestock, in two French agricultural sites: the OSCAR database”. *Biodiversity Data Journal* 8: e50123. <https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e50123>
- Lejal, E., Marsot, M., ChalvetMonfray, K., Cosson, J.F., Moutailler, S., VayssierTaussat, M., Pollet, T. (2019) “A three-years assessment of *Ixodes ricinus*-borne pathogens in a French peri-urban forest”. *Parasites Vectors* (2019) 12:551. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3799-7>
- Lernout, T., De Regge, N., Tersago, K., Fonville, M., Suin, V., Sprong, H. (2019) “Prevalence of pathogens in ticks collected from humans through citizen science in Belgium”. *Parasites & Vectors* (2019) 12:550. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3806-z>

- Lesiczka, P.M., Hrazdilová, K., Majerová, K., Fonville, M., Sprong, H., Hönig, V., Hofmannová, L., Papežík, P., Růžek, D., Zurek, L., Votýpka, J., Modrý, D. (2021) "The Role of Peridomestic Animals in the Eco-Epidemiology of *Anaplasma phagocytophilum*". *Microbial Ecology*. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01704-z>
- Matei, I.A., D'Amico, G., Ionică, A.M., Kalmár, Z., Corduneanu, A., Sándor, A.D., Fiț, N., Bogdan, L., Gherman, C.M., Mihalca, A.D. (2018) "New records for *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal species". *Parasites & Vectors* (2018) 11:193. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2791-y>
- Matei, I.A., Kalmár, Z., Lups, M., D'Amico, G., Ionica, A.M., Dumitrachea, M.O., Gherman, C.M., Mihalca, A.D. (2017) "The risk of exposure to rickettsial infections and human granulocytic anaplasmosis associated with *Ixodes ricinus* tick bites in humans in Romania: A multiannual study". *Ticks and Tick-borne Diseases* 8 (2017) pp. 375-378. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.12.013>
- Matei, I.A., Kalmár, Z., Magdas, C., Magdas, V., Toriay, H., Dumitrache, M.O., Ionica, A.M., D'Amico, G., Sándor, A.D., Ioan Marcutan, D.I., Domsa, C., Gherman, C.M., Mihalca, A.D. (2015) "*Anaplasma phagocytophilum* in questing *Ixodes ricinus* ticks from Romania". *Ticks and Tick-borne Diseases* 6 (2015) pp. 408-413. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.03.010>
- Mihalca, A. D., & Sándor, A. D. (2013). "The role of rodents in the ecology of *Ixodes ricinus* and associated pathogens in Central and Eastern Europe". *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3, 56. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00056>
- Nader, J., Król, N., Pfeffer, M., Ohlendorf, V., Marklewitz, M., Drosten, C., Junglen, S., Obiegala, A. (2018) "The diversity of tick-borne bacteria and parasites in ticks collected from the Strandja Nature Park in south-eastern Bulgaria". *Parasites & Vectors* (2018) 11:165. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2721-z>
- Oteo, J.A., Brouqui, P. (2005) "Ehrlichiosis y anaplasmosis humana". *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 23 No 6, pp. 375-380. <https://doi.org/10.1157/13076178>
- Pedersen, B.N., Jenkins, A., Kjelland, V. (2020) "Tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected from migratory birds in southern Norway". *PLoS ONE* 15(4): e0230579. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230579>
- Pereira, A., Parreira, R., Nunes, M., Casadinho, A., Vieira, M.L., Campino, L., Maia, C. (2016) "Molecular detection of tick-borne bacteria and protozoa in cervids and wild boars from Portugal". *Parasites and vectors* (2016) 9:251. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1535-0>
- Puraite, I., Rosef, O., Paulauskas, A., Radzijeuskaja, J. (2015) "*Anaplasma phagocytophilum* infection in moose (*Alces alces*) in Norway". *Microbes and Infection* 17 (2015) pp. 823-828. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.013>
- Rethlefsen, M. L., Kirtley, S., Waffenschmidt, S., Ayala, A. P., Moher, D., Page, M. J., & Koffel, J. B. (2021). "PRISMA-S: an extension to the PRISMA statement for reporting literature searches in systematic reviews ". *Systematic reviews*, 10(1), pp.1-19.
- Sanchez-Vicente, S., Tagliafierro, T., Coleman, J.L., Benach, J.L., Tokarz, R. (2019) "Polymicrobial nature of tick-borne diseases". *mBio* 10:e02055-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.02055-19>
- Semenza, J.C., Suk, J.E. (2018) "Vector-borne diseases and climate change: a European perspective". *FEMS Microbiology Letters* (2018) 365:244. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx244>
- Silaghi, C., Nieder, M., Sauter-Louis, C., Knubben-Schweizer, G., Pfister, K., Pfeffer, M. (2018) "Epidemiology, genetic variants and clinical course of natural infections with *Anaplasma phagocytophilum* in a dairy cattle herd". *Parasites & Vectors* (2018) 11:20. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2570-1>

- Stanczak, J., Cieniuch, S., Lass, A., Biernat, B., Racewicz, M. (2015) "Detection and quantification of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* ticks from urban and rural environment, northern Poland, by real-time polymerase chain reaction". *Exp Appl Acarol* (2015) 66 pp. 63–81. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-9887-2>
- Stigum, V.M., Jaarsma, R.I., Sprong, H., Rolandsen, C.M., Mysterud, A. (2019) "Infection prevalence and ecotypes of *Anaplasma phagocytophilum* in moose *Alces alces*, red deer *Cervus elaphus*, roe deer *Capreolus capreolus* and *Ixodes ricinus* ticks from Norway". *Parasites & Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3256-Z>
- Sukara, R., Chochlakis, D., Ćirović, D., Penezić, A., Mihaljica, D., Ćakić, S., Valčić, M., Tselentis, Y., Psaroulaki, A., Tomanović, S. (2018) "Golden jackals (*Canis aureus*) as hosts for ticks and tick-borne pathogens in Serbia". *Ticks and Tick-borne Diseases* 9 (2018) pp. 1090-1097. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.04.003>
- Svitáľková, Z., Haruštiaková, D., Mahříková, L., Berthová, L., Slovák, M., Kocianová, E., Kazimírová, M. (2015) "*Anaplasma phagocytophilum* prevalence in ticks and rodents in an urban and natural habitat in South-Western Slovakia". *Parasites & Vectors* (2015) 8:276 <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0880-8>
- Teodorowski, O., Radzki, R., Kalinowski, M., Winiarczyk, S., Garcia Bocanegra, S., Winiarczyk, S., Adaszek, L. (2020) "Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in roe deer (*Capreolus capreolus*) in eastern Poland". *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (2020), 27, No 4, pp. 702-705. <https://doi.org/10.26444/aaem/124902>
- Tolnai, Z., Sréter-Lancz, Z., Sréter, T. (2015) "Spatial distribution of *Anaplasma phagocytophilum* and *Hepatozoon canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary". *Ticks and Tick-borne Diseases* 6 (2015) pp. 645-648. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.05.009>
- Václavík, T., Balážová, A., Baláž, V., Tkadlec, E., Schichor, M., Zechmeisterová, K., Ondruš, J., Šíroký, P. (2020) "Landscape epidemiology of neglected tick-borne pathogens in central Europe". *Transbound Emerg Dis.* (2020) 00, pp.1–12. <https://doi.org/10.1111/tbed.13845>
- Vaculová, T., Derdáková, M., Špitalská, E., Václav, R., Chvostáč, M., Tarageľová, V.R. (2019) "Simultaneous Occurrence of *Borrelia miyamotoi*, *Borrelia burgdorferi* Ssensu Lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* Ticks in Urban Foci in Bratislava, Slovakia". *Acta Parasitologica* (2019) 64, pp. 19–30. <https://doi.org/10.2478/s11686-018-00004-w>
- Venclíková, K., Mendel, J., Betášová, L., Blazejová, H., Jedlicková, P., Straková, P., Hubálek, Z., Rudolf, I. (2016) "Neglected tick-borne pathogens in the Czech Republic, 2011–2014". *Ticks and Tick-borne Diseases* 7 (2016) pp. 107-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.09.004>
- Weaver, S.C., Charlier, C., Vasilakis, N., Lecuit, M. (2018) "Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases". *Annu Rev Med.* (2018) 29; 69, pp. 395–408. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-050715-105122>

Anexo 1

Material Suplementario: lista de todos los estudios publicados utilizados en este estudio. Se indica el DOI (localizador único) para la mayoría de los artículos. Aquellos informes para los que no se reconoce el DOI se incluyen como referencia completa.

10.1515/ap-2015-0091
10.1017/S0950268813002094
10.1007/s10344-012-0685-4
10.1016/j.micinf.2015.09.013
10.1128/AEM.00590-07
Christova and Gladnishka 2005
10.1007/s00436-008-1059-4
Hulinska <i>et al.</i> 2004
Liz <i>et al.</i> 2000
10.1111/j.1469-0691.2006.01630.x
10.1111/1462-2920.13885
10.1186/s13071-017-2221-6
10.1196/annals.1374.058
Štefancikova <i>et al.</i> 2008
10.1016/j.ttbdis.2014.07.012
10.1016/j.ttbdis.2016.05.005
Christova <i>et al.</i> 2012
10.1186/1756-3305-7-365
10.1128/JCM.00284-13
10.1186/s13071-014-0563-x
10.1016/j.ttbdis.2014.10.004
10.1016/j.meegid.2013.06.003
10.2376/0005-9366-128-10
Matsumoto <i>et al.</i> 2008
10.1128/JCM.02051-10
10.1186/s13071-017-2305-3
10.1128/JCM.42.8.3775–3780.2004
10.1196/annals.1374.092
Stuen <i>et al.</i> 2005
10.1007/s11259-007-0072-x
10.1128/AEM.01625-08
10.1196/annals.1374.091
10.1292/jvms.13-0365
10.1186/1756-3305-7-439
10.1016/j.ttbdis.2010.12.001
10.1186/1751-0147-55-38
10.1007/s00436-011-2657-0
Nieder, M., Silaghi, C., Hamel, D., Pfister, K., Schmäscke, R., & Pfeffer, M. (2012). Tick-borne fever caused by <i>Anaplasma phagocytophilum</i> in Germany. <i>Tierärztliche Praxis Großtiere</i> , 40(2), 101-106.

10.1128/AEM.71.10.6418-6422.2005
10.1111/vcp.12131
10.1016/j.ttbdis.2012.08.003
10.1016/j.ttbdis.2013.12.010
10.1186/1756-3305-5-62
10.1111/j.1939-165X.2011.00321.x
10.1016/j.vprsr.2017.06.001
Ebani, V. V., Bertelloni, F., Turchi, B., & Cerri, D. (2013). Serological and molecular survey of <i>Anaplasma phagocytophilum</i> in Italian hunting dogs. <i>Annals of Agricultural and Environmental Medicine</i> , 20(2).
10.1016/S2221-1691(15)30153-2
10.1089/vbz.2013.1469
10.1007/s00436-011-2659-y
10.1007/s00436-015-4765-8
10.1371/journal.pone.0093725
10.1016/j.copbio.2013.05.125
Jensen <i>et al.</i> 2007
Kirtz <i>et al.</i> 2005
Kohn <i>et al.</i> 2008
10.1016/j.rvsc.2010.08.008
10.1007/s00436-014-3985-7
Kybicova <i>et al.</i> 2009
10.1638/2011-0224R.1
10.1186/1756-3305-6-62
Lillini <i>et al.</i> 2006
10.1089/vbz.2010.0276
10.1089/vbz.2016.1998
Melter <i>et al.</i> 2007
10.1089/vbz.2011.0915
10.1186/1756-3305-6-117
10.1089/vbz.2016.1990
Panchev <i>et al.</i> 2009
10.1016/j.ttbdis.2012.10.026
10.1007/s00436-017-5574-z
Potkonjak <i>et al.</i> 2015
10.15654/TPK-140962
10.1016/j.vetmic.2010.10.005
10.1128/JCM.06041-11
10.1186/s13071-015-0824-3
10.1016/j.cimid.2017.04.003

10.1186/s13071-016-1639-6
10.1186/1756-3305-7-285
10.1016/j.vetpar.2014.01.022
10.5604/12321966.1129912
10.2478/s11686-013-0171-5
10.1089/vbz.2010.0051
10.1051/parasite/2011181057
Adamska <i>et al.</i> 2010
10.1007/s10096-006-0196-x
10.3201/eid1512.090178
10.1016/j.meegid.2017.08.010
10.1016/j.ttbdis.2016.03.012
10.1089/vbz.2015.1768
10.1016/j.ttbdis.2015.10.019
Hapunik, J., Víchová, B., Karboviak, G., Wita, I., Bogdaszewski, M., & Petko, B. (2011). Wild and farm breeding cervids infections with <i>Anaplasma phagocytophilum</i> . <i>Annals of Agricultural and Environmental Medicine</i> , 18(1).
10.1186/s13071-017-2316-0
10.1016/j.mcp.2016.08.008
Michalik <i>et al.</i> 2009
Mogl <i>et al.</i> 2011
10.1016/j.ttbdis.2013.01.004
Petrovec <i>et al.</i> 2003
10.1128/JCM.42.5.2285–2286.2004
10.1007/s10344-009-0261-8
10.3409/fb62_1.37
Rymaszewska, 2014
Skarphéðinsson <i>et al.</i> 2005
Skotarczak <i>et al.</i> 2008
10.2478/s11756-011-0131-1
10.1089/vbz.2012.1136
10.1556/AVet.2012.038
10.1080/1828051X.2016.1245593
10.1007/s10096-008-0539-x
10.1016/j.mcp.2016.07.003
10.1016/j.cimid.2016.06.003
10.1016/j.ttbdis.2014.05.005
10.1186/s13071-016-1535-0
10.1016/j.ttbdis.2012.11.014
10.1089/vbz.2016.2054

Ebani, V. V., Cerri, D., Fratini, F., Ampola, M., & Andreani, E. (2007). <i>Anaplasma phagocytophilum</i> infection in a fallow deer (<i>Dama dama</i>) population in a preserve of central Italy. MICROBIOLOGICA-BOLOGNA-, 30(2), 161.
10.1016/j.rvsc.2010.05.019
10.1089/vbz.2009.0214
10.1111/j.1863-2378.2011.01394.x
Butler <i>et al.</i> 2008
10.21836/PEM20160406
10.1099/jmm.0.058636-0
10.1016/j.jevs.2015.01.017
10.1007/s00436-012-2854-5
Gotić <i>et al.</i> 2017
10.1186/1751-0147-52-3
10.1292/jvms.12-0449
Leblond <i>et al.</i> 2005
10.1016/j.cimid.2008.08.002
10.1007/s00436-013-3429-9
10.1016/j.vetpar.2015.10.025
10.1016/j.vetmic.2014.08.017
0.3201/eid2003.130935
10.1016/j.ttbd.2011.11.005
10.1089=vbz.2009.0150
10.1177/1098612X12466552
10.1089/vbz.2011.0729
10.1016/j.ttbd.2014.04.019
Hamel <i>et al.</i> 2012
Heikkilä <i>et al.</i> 2010
10.1186/s13071-016-1534-1
10.1186/1756-3305-7-62
10.1177/1098612X13514422
10.3201/eid1808.120180
10.1128/JCM.39.12.4591-4592.2001
10.1007/BF01701530
10.1196/annals.1374.015
10.1089/vbz.2010.0215
Chmielewska-Badora <i>et al.</i> 2007
Cisak <i>ET AL.</i> 2005
10.1016/j.ttbd.2011.06.004
10.1186/1476-0711-4-15
10.1093/infd.175.3.720

10.1016/j.ttbdis.2012.10.002
Grzeszczuk <i>ET AL.</i> 2004
Grzeszczuk, A. (2006). <i>Anaplasma phagocytophilum</i> in <i>Ixodes ricinus</i> ticks and human granulocytic anaplasmosis seroprevalence among forestry rangers in Białystok region. <i>Adv Med Sci</i> , 51, 283-286.
Hagedorn, P., Imhoff, M., Fischer, C., Domingo, C., & Niedrig, M. (2014). Human granulocytic anaplasmosis acquired in Scotland, 2013. <i>Emerging infectious diseases</i> , 20(6), 1079-1081.
10.3109/00365548.2014.959044
HULÍNSKÁ <i>et al.</i> 2009
10.1080/003655401750064130
10.1089/vbz.2016.1954
10.1007/s00508-008-1000-y
10.1016/j.diagmicrobio.2011.12.005
10.1111/j.1469-0691.2006.01490.x
10.1007/PL00015026
10.1016/j.ijid.2017.05.006
10.1086/514683
10.1111/j.1749-6632.2003.tb07377.x
10.1007/s00508-006-0700-4
10.1111/j.1469-0691.2008.02145.x
Maciukajć, J. (2004). The risk of exposure to <i>Anaplasma phagocytophilum</i> infection in Mid-Eastern Poland. <i>Ann Agric Environ Med</i> , 11, 261-264.
10.1007/s10096-014-2134-7
10.1016/j.cyto.2016.10.014
Nordberg, M. (2012). Tick-borne infections in humans: aspects of immunopathogenesis, diagnosis and co-infections with <i>Borrelia burgdorferi</i> and <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .
10.3201/eid0604.000425
Petrovec, M., Furlan, S. L., Zupanc, T. A., Strle, F., Brouqui, P., Roux, V., & Dumler, J. S. (1997). Human disease in Europe caused by a granulocytic Ehrlichia species. <i>Journal of Clinical Microbiology</i> , 35(6), 1556-1559.
10.1097/INF.0000000000001004
10.1007/BF01691120
10.1086/377502
10.1016/j.cmi.2016.05.014
10.1111/j.1574-695X.2011.00891.x
10.1007/s100960100464
10.1056/NEJM199904153401517
10.1007/BF03040326
10.1016/j.ijmm.2005.12.001
Weber, R., Pusterla, N., Loy, M., & Lutz, H. (1998). Fever, leukopenia, and thrombocytopenia in a patient with acute Lyme borreliosis were due to human granulocytic ehrlichiosis. <i>Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America</i> , 26(1), 253.
10.1186/1756-3305-7-57
Asman, M., Nowak, M., Cuber, P., Strzelczyk, J., Szilman, E., Szilman, P., ... & Wiczowski, A. (2013). The risk of exposure to <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> , <i>Babesia</i> sp. and co-infections in <i>Ixodes ricinus</i> ticks on the territory of Niepolomice forest (southern Poland). <i>Ann Parasitol</i> , 59(1), 13-9.

Asman <i>et al.</i> 2017
Aureli, S., Foley, J. E., Galuppi, R., Rejmanek, D., Bonoli, C., & Tampieri, M. P. (2012). <i>Anaplasma phagocytophilum</i> in ticks from parks in the Emilia-Romagna region of northern Italy. <i>Vet Ital</i> , 48(4), 413-423.
10.3201/eid2006.131023
10.3201/eid2006.131024
10.3201/eid2006.131025
10.3201/eid2006.131026
10.3201/eid2006.131027
10.3201/eid2006.131028
10.3201/eid2006.131029
10.3201/eid2006.131030
10.3201/eid2006.131031
10.3201/eid2006.131032
10.1089/vbz.2008.0023
Baumgarten <i>et al.</i> 1999
10.1089/vbz.2006.0633
10.1089/vbz.2011.0933
10.1371/journal.pntd.0005416
Bown <i>et al.</i> 2006
10.1128/AEM.00625-08
10.1186/1756-3305-5-61
10.1016/j.ttbdis.2013.08.007
10.1089/vbz.2008.0068
10.1089/vbz.2007.0245
10.1128/JCM.39.11.4172-4174.2001
10.1016/j.ijmm.2008.04.001
Cisak <i>et al.</i> 2007
10.13075/mp.5893.00053
10.1186/1756-3305-6-183
0.3389/fcimb.2013.00036
10.1089/vbz.2009.0066
10.1016/j.vetmic.2011.05.044
10.1186/1756-3305-7-160
Derdáková <i>et al.</i> 2003
10.1016/j.ttbdis.2012.06.001
10.1016/j.ttbdis.2012.11.010
10.2478/bvip-2014-0005
10.1016/j.apjtm.2015.07.033
10.1016/j.ttbdis.2012.01.002

10.1089/vbz.2013.1498
10.1016/j.ttbdis.2017.02.001
10.1128/AEM.72.4.3074-3078.2006
10.1128/AEM.01630-10
10.1111/j.1365-2915.2010.00905.x
10.1603/ME10182
10.1089/vbz.2012.1054
Gladnishka <i>et al.</i> 2005
10.1016/j.ttbdis.2013.10.006
10.1186/1751-0147-52-43
10.1196/annals.1374.057
10.1051/vetres:2005055
10.1196/annals.1374.059
10.1128/AEM.00610-10
10.1017/S0950268814001691
10.1017/S0031182011000400
Hartelt <i>ET AL.</i> 2004
10.1186/s12866-015-0486-5
10.1111/1462-2920.13164
10.1016/j.ttbdis.2009.12.003
10.1016/j.ttbdis.2009.11.005
10.1089/vbz.2010.0048
10.1089/vbz.2012.1032
10.1186/1756-3305-7-128
10.1016/j.ttbdis.2014.05.010
10.1556/004.2017.024
10.1186/s13071-017-2065-0
10.1007/s10493-017-0110-5
10.1111/j.1469-0691.2010.03457.x
Kiewra <i>et al</i> 2014
10.1007/s10493-007-9048-3
10.2478/s11756-008-0007-1
10.1186/s13071-015-0814-5
10.1186/s13071-016-1632-0
10.1016/j.ttbdis.2017.02.007
10.1111/j.1365-2915.2012.01036.x
10.1128/AEM.07961-11
10.1016/j.ttbdis.2014.07.001

10.1007/s10493-012-9535-z
10.1017/S0950268803001328
10.1007/s10096-006-0208-x
10.1186/1756-3305-7-S1-P16
10.1016/j.ttbdis.2015.03.010
10.1016/j.ttbdis.2016.12.013
10.1007/s00436-014-3869-x
10.1016/j.ijmm.2008.01.007
10.3389/fcimb.2014.00103
10.3201/eid1806.110997
10.1007/s10493-008-9166-6
10.1016/j.vetpar.2013.01.016
10.1371/journal.pntd.0004539
Movila <i>et al.</i> 2006
10.1111/j.1469-0691.2008.02152.x
10.1016/j.ttbdis.2012.12.004
10.1186/1756-3305-6-187
10.1089/vbz.2007.0130
10.1186/1756-3305-7-328
10.1128/AEM.03300-12
Păduraru, O.A., Buffet, J.P., Cote, M., Bonnet, S., Moutailler, S., Paduraru, V., Feme-nia, F., Eloit, M., Savuta, G., Vayssier-Taussat, M., (2012). Transmission of Pathogens by Ixodes ricinus Ticks, Romania. <i>Emerg Infect Dis</i> , 17, 1174-80.

